

**Zur Kenntnis des proteolytischen Systems
der Speicheldrüsen**

Athanasius Chryssikopoulos

1962



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555624_0012

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

(Direktor: Professor Dr. W. B ü n g e l e r)

Zur Kenntnis des proteolytischen Systems der Speicheldrüsen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

verfasst und einer

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt

von

Athanasius Chryssikopoulos

aus Athen

München

1962



Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. W. Büngeler
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. A. Herrmann, Prof. Dr. E. Werle
Dekan:	Prof. Dr. W. Seitz

Tag der mündlichen Prüfung: 8. Mai 1962

Obgleich die Speicheldrüsen oberflächlich liegen und dadurch den Untersuchungen relativ gut zugänglich sind, ist ihre normale und pathologische Physiologie nicht hinreichend erforscht oder entsprechen die derzeitigen Erkenntnisse nicht mehr dem Stand moderner Arbeitsmethoden. Viele unserer Kenntnisse beruhen auf Analogieschlüssen mit Tierversuchen. Es muß dabei erwähnt werden, daß die Variabilität der Speicheldrüsen bei verschiedenen Tierspecies sehr groß ist.

EVANS (1) beschreibt, daß die Submandibularisspeicheldrüsen der Affen rein serös sind, die der Hunde fast nur mucös; bei der Katze mucös und beim Menschen gemischt mit serösem Prävalenz: Bei Ratten und Mäusen überwiegen die serösen Elemente (FAHRENHOLZ (2)).

Es ist daher verständlich, wenn von verschiedenen Forschern, die mit verschiedenen Tierarten arbeiteten, eventuell auch entgegengesetzte Ergebnisse beschrieben wurden.

MERKEL (3) als erster und dann BAYLISS und BRANDFORD (4), HEIDENHEIM (5), LANGENSKIÖLD (6) und viele andere hatten sich in sorgfältigen und ausführlichen Versuchen über die Sekretion der Speicheldrüsen große Verdienste erworben.

Heute ist die Zusammensetzung des Sekretionsproduktes der Speicheldrüsen, des Speichels, weitgehend bekannt. Es enthält neben anorganischen, chemischen Verbindungen Ionen wie K^+ , Na^+ , NH_3 , Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^- , CO_3^{--} , SCN^- , auch organische z.B. Fermente wie Phosphatase, Maltase, Urease, Protease, Peroxydase, Lipase, Carboanhydrase (M. R. DEWAR (7)), glykolytische Fermente, Mucinase und Lysozym (H. J. ROGERS (8)).

Die wichtige Rolle, die der Speichel als Verdauungsfaktor spielt, ist so bekannt, daß wir es nicht für nötig halten, weiter darüber zu berichten.

Die bekannte baktericide Wirkung des Speichels wurde in Zusammenhang mit der Zahnkaries gebracht, wobei J. WEINMANN (9) die proteolytischen Fähigkeiten des Speichels als den wichtigsten Teilfaktor annimmt. Andererseits fanden J. RESNIK, N. O. WILLET und J. H. SHAW (10) keine Zusammenhänge zwischen Speicheldrüsen und Kariesanfälligkeit.

In den letzten Jahren sind die Speicheldrüsen in den Vordergrund des Interesses gerückt, nachdem nachgewiesen wurde, daß sie eine innere Sekretion bzw. eine Korrelation mit anderen Drüsen besitzen. H. GRANADOS, J. CLAVIND

und B. NOER (11), nehmen auf Grund ihrer Versuche an, daß im Speichel ein Wachstumsfaktor enthalten ist. Y. ITO (12) stellte fest, daß Extrakt aus Speicheldrüsen fördernd auf das Wachstum von Knochen und Zähnen wirkte. Außerdem haben die Speicheldrüsen einige Beziehungen zu den Nebennieren. Sie erhöhen die Zahl der Leukozyten und setzen den Eiweißgehalt des Serums, sowie die Zahl der Azidophilen im Blut herab.

NOBUZIRO TAKIZAWA (13) stellte fest, daß Entfernung der Parotis und Submandibularisdrüse eine relative Zunahme der azidophilen Zellen im Hypophysenvorderlappen, Zunahme der Schilddrüesfollikel epithelien, Vermehrung der B-Zellen der Langerhansschen Inseln, Atrophie der Zona glomerulosa der N. N. R., sowie Störungen der Osteogenese und Dentogenese bewirkte. Nach Entfernung der Parotis allein beobachtete man dieselben Veränderungen, aber nur schwächer ausgeprägt. Schließlich wiesen T. OGATA (14) sowie S. HIROSE und Mitarb. (15) auf eine innere Sekretion der Speicheldrüsen hin. Auch über die proteolytischen Fähigkeiten der Speicheldrüsen und des Speichels liegen Arbeiten vor, deren Ergebnisse teils überholungsbedürftig teils unvollständig sind.

Bemerkenswert sind die Versuchsergebnisse von O. VOSS (16) welcher im Sekret menschlicher Sublingualis-Submandibulardrüsen eine proteolytische Wirkung nicht eindeutig feststellen konnte, während er im Parotissekret ein bei pH 8.0 wirksames trypsinartiges Ferment fand. Dieser Befund sowie außerdem die Anwesenheit von diastatischen und lipolytischen Fermenten veranlaßten VOSS darauf hinzuweisen, daß die ParotisFunction der Pankreasfunktion ähnlicher sei als der Funktion der üblichen Mundspeicheldrüsen.

R. WILLSTÄTTER, E. BAMANN und M. ROHDEWALD (17) untersuchten schon 1930 die proteolytischen Eigenschaften der Speicheldrüesengewebe. Erneut griffen in letzter Zeit SREEBNY und Mitarbeiter das Thema auf. Da die Arbeiten dieser Autoren, besonders der Letztgenannten viele Parallelen zu den eigenen, gleichzeitig und unabhängig erzielten Ergebnissen aufweisen, wird erst in den späteren Kapiteln dieser Dissertation darauf eingegangen.

Ein besonders wichtiges Problem innerhalb der Proteolyse ist die Fibrinolyse. Auch darüber finden sich bereits in Bezug auf die Physiologie der Speicheldrüsen Hinweise und Ergebnisse in der Literatur. So untersuchten O. K. ALBRECHTSEN und J. H. THAYSEN (18) menschlichen Parotisspeichel. Diese Autoren beobachteten, daß menschlicher Parotisspeichel auf Fibringallerte keine fibrinolytische Aktivität zeigt. Gleichzeitige Zugabe von geringen Mengen Streptokinase

führt aber zum Auftreten von fibrinolytischer Aktivität. Gegenüber erhitzten Fibrinplatten ist der Speichel inaktiv, auch wenn Streptokinase zugesetzt wurde. Wird jedoch Rinderplasminogen dem Speichel beigemischt, so kommt es zu Fibrinolyse, die durch weitere Zugabe von Streptokinase noch ansteigt. Es fanden sich ferner sehr kleine Mengen von Plasminogen-Aktivator. Das fibrinolytische System des Speichels ähnelt nach ALBRECHTSEN und THAYSEN jenem der Milch, der Tränenflüssigkeit und des Urins.

Bei der Durchführung eigener Versuche die Quantität von Aktivatoren und Inhibitoren der Fibrinolyse in einzelnen normalen und pathologischen Organen miteinander zu vergleichen, fiel uns das Verhalten der Submandibularspeicheldrüse der Ratten in mancher Beziehung besonders auf. Wir hatten deshalb das Verhalten dieser Drüse einer genaueren Untersuchung unterzogen, und zwar in Hinsicht auf die Gerinnungsfaktoren Thrombokinasen und auf die Wirksamkeit gegenüber Proteinen und Peptiden und verglichen die Werte mit den entsprechenden Werten anderer Speicheldrüsen, vor allem der Parotis und der Bauchspeicheldrüse.

Es wird nachfolgend über das Ergebnis dieser Untersuchungen berichtet.

I. Vergleich der Thrombokinase-Aktivität von Homogenaten aus Glandula Submandibularis, Parotis, Pankreas und anderen Organen

Homogenatherstellung: Eine männliche Ratte wurde in Äthernarkose getötet, sezziert, die Organe wurden bei 0°C in einem Glashomogenisator zerkleinert und schließlich im Verhältnis 1 g Gewebshomogenat auf 10 ml 0.9% NaCl-Lösung gemischt. Die Homogenate wurden auf ihre Thrombokinase-Aktivität geprüft, indem 2.0 ml Pferdecitratplasma eine Minute bei 37°C vorgewärmt, anschließend mit 0.2 ml Organhomogenat 1 Minute inkubiert und schließlich mit 2.0 ml Calciumchloridlösung (548 mg-%) recalcifiziert wurde.

Es wurden die Gerinnungszeiten des Plasmas nach Zufügen von Homogenaten der Submandibularspeicheldrüse mehrerer Tierarten sowie der Menschen in Sekunden gemessen am Gerinnungseintritt.

Im Vergleich mit den Parotis- und Pankreashomogenaten erwies sich das Submandibulardrüsen-Homogenat überlegen wie aus der Tabelle 1 ersichtlich ist.

Eine besondere Stelle nimmt hier das Rinderplasma ein, welches nach Einwirkung von Submandibulardrüsen-Homogenat nach Recalcifizierung nicht mehr gerinnbar ist. Dieser Effekt konnte immer wieder reproduziert werden.

Tabelle 1

Recalcifizierungs-Zeiten in Sekunden bei verschiedenen Plasmen unter Anwendung von Organhomogenaten aus Glandula Submandibularis, Parotis und Pankreas.

Citratplasmen von						
Homogenat aus	Pferd	Schwein	Ratte	Mensch	Rind	Kaninchen
Gland. Submand.	20	21	34	47	unge-rinn-bar	21
Parotis	42	25	50	52	108	71
Pankreas	37	23	54	54	141	58

(Die Zahlen in der Tabelle bedeuten Gerinnungszeit des Plasmas in Sekunden)

Diese Eigenschaften der Submandibularisdrüse veranlaßten uns zu einer genauen Untersuchung auch anderer Organe der Ratten, sowie anderer Tierarten und des Menschen und zum Vergleich mit der Submandibulardrüse. Es konnte, wie aus der Tabelle 2 ersichtlich ist, gezeigt werden, daß die Submandibulardrüse zusammen mit Lunge, Prostata und Nebenhoden gegenüber verschiedenen Plasmen zu den thrombokinase-aktivsten Organen gehört.

Wie schon oben berichtet wurde, unterscheidet sich das Submandibulardrüsen-Homogenat, gegenüber anderen Organextrakten, daß es das Rinderplasma nach Recalcifizierung nicht zur Gerinnung bringt.

Bei anderen Versuchsreihen haben wir die Homogenate bei 6000 U/Min. 15 Min. lang unter Kühlung zentrifugiert und die Überstände auf Thrombokinase-Wirkung getestet.

Ansätze: 2.0 ml Plasma mit 0.2 ml Überstand 1 Min. inkubiert, anschließend recalcifiziert.

Ferner wurden nach bekannten Verfahren Aceton-Trockenpräparate hergestellt, diese in NaCl 0.9% aufgenommen und gegenüber Pferdeplasma getestet.

Trockenpräparate: Die Homogenate wurden mit einem Überschuß Aceton versetzt, die Fällung zentrifugiert, mit Aceton nachgewaschen und getrocknet. 15 mg wurden in 2.0 ml 0.9% NaCl-Lösung aufgenommen, 5 Minuten bei 37°C aufbewahrt, hierauf 0.2 ml mit 2.0 ml Plasma inkubiert und recalcifiziert. Es wurde gealtertes Pferdeplasma verwendet.

Die in nachfolgender Tabelle gezeigten Ergebnisse wurden erzielt.

Tabelle 3

Recalcifizierungs-Zeit verschiedener Homogenate in Sekunden

Organ	Recalcifizierungs-Zeit bei Verwendung von	
	Überstand	Acetonpräparat
Gland. Submand.	30	150
Parotis	60	260
Pankreas	70	45-50 Min.
Kontrolle des Plasmas: Recalcifizierungs-Zeit ohne Zusatz: 14		

Es ist bemerkenswert, daß die Pankreas-Trockenpräparate eine ausgesprochene Hemmwirkung zeigten. Wir haben den Effekt wiederholt beobachtet, aber nicht näher untersucht.

Tabelle 2

Thrombokinas-Wirksamkeit verschiedener Rattenorgane gegenüber verschiedenen Plasmen, geordnet nach Recalcifizierungs-Zeit in Sekunden.

Kaninchen	Pferd	Schwein	Rind	Ratte	Mensch
Submand. 22	Lunge 16 Nebenhoden 16	Nebenhoden 11	Prostata 33	Lunge 30	Milz 27
Nebenhoden 34 Prostata 34	Submand. 20	Prostata 12	Nebenhoden 36	Submand. 34	Prostata 32
Niere 43	Prostata 21	Lunge 13	Niere 39	Gehirn 36	Parotis 36 Niere 36
Lunge 56	Niere 24	Niere 16	Thymus 60	Nebenhoden 36	Submand. 47
Pankreas 58	Pankreas 37 Hoden 37 Milz 37	Thymus 20	Hoden 68	Prostata 48	Thymus 54 Pankreas 54 Lunge 56
Thymus 60	Thymus 41	Submand. 21 Milz 21	Lunge 70	Parotis 50	Gehirn 64
Parotis 71	Parotis 42	Gehirn 22		Pankreas 54 Milz 54	
Gehirn 82		Pankreas 23 Hoden 23	Gehirn 82	Niere 71	Hoden 72
Milz 94	Leber 71	Parotis 25	Leber 94	Hoden 74	Leber 98
Hoden 144		Leber 27	Parotis 108 Milz 114	Thymus 91 Leber 94	
Leber 200			Pankreas 141		
Kontrolle 260	Kontrolle 200	Kontrolle 90	Kontrolle 165	Kontrolle 448	Kontrolle 172

Erläuterungen: In den senkrechten Spalten finden sich die Recalcifizierungs-Zeiten in Sekunden. In der ersten waagrechten Spalte ist die Reihenfolge der angewendeten Tierplasmen angegeben. In der letzten waagrechten Spalte sind die Recalcifizierungs-Zeiten der Plasmen ohne Homogenatzusatz angegeben. Versuchsansätze wie bei Tabelle 1.

II. Fibrinbildung und Fragilität des Fibrins bei Einwirkung von Submandibular-Homogenat auf Plasma

Wenn man zentrifugierte Homogenate von Organen wie oben beschrieben wurde, auf Plasma einwirken läßt und recalcifiziert, tritt nach einer gewissen Zeit, die bekanntlich bei den verschiedenen Organen verschieden ist, die Gerinnung ein. Man kann aus solchen Ansätzen das Fibrin aus dem Plasma vollkommen entfernen, indem man einen Metall- oder Glasstab in das geronnene Präparat mit drehenden Bewegungen einführt. Es läßt sich das ganze Fibrinnetz aufrollen. Wenn nun aber dem Plasma zentrifugiertes Submandibulardrüsenhomogenat zugefügt und recalcifiziert wird, tritt zwar die Gerinnung ein, aber die entstandene Gallerte ist nicht so fest wie bei der Anwendung von Homogenaten anderer Organe. Wenn man jetzt versucht, aus solchen Ansätzen das Fibrin zu entfernen, zeigt sich eine Schwierigkeit insofern, als kein typisches Fibrinnetz gebildet wird, welches sich in beschriebener Weise aufrollen ließe. Es scheint, daß die Fragilität des Fibrinkoagulums stark erhöht und die Retrahierbarkeit herabgesetzt ist. Dieses Verhalten ist spezifisch für die Submandibulardrüsen-Homogenate.

P. BIERSTEDT (19/20) zeigte daß die Thrombozyten ihre Oberfläche adsorptiv mit fibrinolytischem Material beladen können, wenn sie sich lange genug in einem fibrinolytischen Milieu befunden haben. Da die Thrombozyten Haftpunkte der Fibrinfasern darstellen, dürfte angenommen werden, daß von der Thrombozytenoberfläche aus diese Haftpunkte fermentativ verdaut werden.

Andere Ursachen dieses Verhaltens könnten quantitativer oder qualitativer Natur sein und zwar:

- entweder a) Wird das Fibrin zuerst normal gebildet und gleich danach durch die im Submandibulardrüsen-Homogenat befindlichen fibrinolytischen Faktoren abgebaut, so daß das schon angegriffene Fibrinnetz nicht mehr stabil ist und beim Aufrollen diese erhöhte Fragilität und herabgesetzte Retrahierbarkeit zeigt;
- oder b) werden andere Serumfraktionen, wie später ausführlich berichtet wird, angegriffen und abgebaut, so daß es nur zu einer eingeschränkten und minderwertigen Fibrinnetzbildung kommt.

Wir haben geprüft, ob die abgeschiedene Fibrinmenge von der Einwirkungszeit des Präparates abhängig ist. Wir fanden, daß bei zunehmender Inkubation der Homogenate im Plasma die Fibrinmenge laufend abnimmt. Wenn wir die Inkubationszeit noch weiter verlängerten, dann blieb schließlich bei der nachfolgenden Recalcifizierung die Gerinnung aus. Bei anderen Versuchen haben wir bei gleichbleibender Inkubationszeit die Aufbewahrungszeit des recalcifizierten Ansatzes verlängert. Dabei nimmt bei zunehmender Aufbewahrungszeit die Menge des ausgeschiedenen Fibrins ab. Die Zahlen der Tabelle 4 und der Abbildung 1 zeigen, daß bei zunehmender Dauer der Inkubationszeit des Plasmas mit dem Submandibulardrüsen-Homogenat die Menge des gebildeten Fibrins immer geringer wird, bis schließlich die Gerinnung ausbleibt. Gleichzeitig ist die Recalcifizierungszeit entsprechend verlängert.

Tab. 4 Fibrinabscheidungsversuche.

Ansätze: 2.0 ml Pferde-Plasma und 0.2 ml Homogenat werden verschiedenen lange Zeit inkubiert (zweite senkrechte Spalte der Tab. 4), hierauf wird recalcifiziert und nach eingetretener Gerinnung die Ansätze unterschiedlich lang bei 37°C belassen (vierte senkrechte Spalte, "Aufbewahrungszeit"). Die gebildeten Fibrine werden wie üblich entnommen und nach Waschung und Trocknen gewogen.

Tabelle 4

Versuchs-Nr.	Inkubationszeit (Min.)	Recalc.-Zeit (Sek.)	Aufbewahr.-Zeit (Min.)	Fibrinmenge (mg)
1	0	22	5	10.8
2	1	22	5	10.3
3	3	30	5	9.4
4	5	54	5	6.8
5	10	ungerinnbar	5	-
6	15	ungerinnbar	5	-
7	20	ungerinnbar	5	-
8	30	ungerinnbar	5	-
9	1	19	0	11.2
10	1	21	10	10.6
11	1	21	30	10.6
12	1	22	60	10.0

Die nachfolgende Abbildung 1 zeigt eine graphische Darstellung der Ergebnisse aus Tabelle 4.

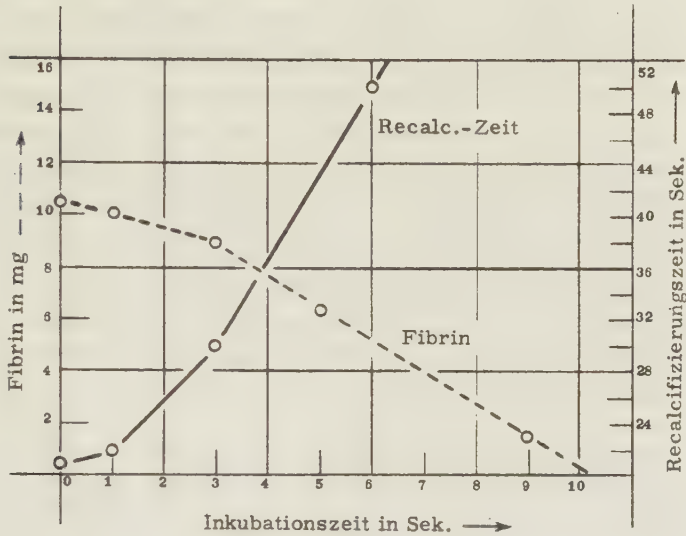


Abb. 1 Fibrinabscheidung und Recalcifizierungs-Zeit in Abhängigkeit von der Inkubationszeit

Wie oben berichtet wurde, kann die Ursache der Fragilität des Fibrin-koagulums darin liegen, daß nach Einwirkung von Submandibular-Homogenaten vor der Recalcifizierung die verschiedenen Gerinnungsfaktoren z.B. Fibrinogen, Prothrombin, Thrombin, abgebaut werden.

Nach den Ergebnissen unserer eigenen Versuche besteht wohl kein Zweifel, daß eine Fibrinogenolyse während der Inkubationszeit rasch eingesetzt. Der experimentelle Nachweis hierfür läßt sich, wie nachfolgend beschrieben, führen; 2.0 ml Plasma werden mit 0.2 ml Homogenat 20 Min. lang inkubiert. Nach dieser Zeit tritt nach Zufügen von Calciumchloridlösung keine Gerinnung mehr auf. Wenn man aber dem Ansatz eine Fibrinogenlösung - wir verwendeten hier 10 mg eines Präparates der Armour-Corporation, gelöst in 0.5 ml

m/15-Phosphatpuffer, pH 7.8 - zugefügt, tritt nach ca. 1 Minute wieder Gerinnung auf. Aus dem Versuch ist zu schließen, daß Fibrinogen abgebaut wird, Thrombin aber noch vorhanden ist.

Es scheint aber, daß nicht nur Fibrin und Fibrinogen durch die fibrinolytischen Faktoren angegriffen werden, sondern auch Thrombin. Dies läßt sich nachweisen, indem Thrombin (z.B. ein Präparat der Firma Behring) in Gegenwart von Submandibularis-Extrakt reines Fibrinogen nicht zur Gerinnung bringt. Selbst nach einer Inkubationszeit von Bruchteilen einer Sekunde, wobei wohl kaum ein signifikanter Fibrinogenabbau eingesetzt haben kann, tritt keine Gerinnung auf. Um festzustellen, ob es sich dabei um eine echte oder scheinbare Antithrombinwirkung handelt, haben wir folgenden Versuch durchgeführt:

Zu 0,2 ml einer Thrombinlösung (Präparat der Firma Behring, 30 N.I. A. in 3,0 ml) werden 0,2 ml Submandibulardrüsen-Homogenat zugefügt. Dabei dauert die Inkubationszeit bei den einzelnen Ansätzen verschieden lang. Nach der Inkubation werden 2,0 ml Pferdecitratplasma zugesetzt und der Gerinnungseintritt beobachtet. Wie aus der Tabelle 5 zu entnehmen ist zeigt sich, daß je länger das Submandibulardrüsen-Homogenat auf das reine Thrombin einwirkte, desto länger auch das Zeitintervall bis zum Eintritt der Gerinnung war. Nach einer Inkubationszeit von ca. 45 Minuten blieb die Gerinnung überhaupt aus.

Tabelle 5

Antithrombinwirkung von Submandibulardrüsen-Homogenat

Ansätze	Einwirkungszeit des Homogenats auf Thrombin	Gerinnungszeit des Plasmas
2,0 ml	0"	2'22"
Pferdecitratplasma	30"	2'30"
+ 0,2 ml	1'	3'45"
Homogenat	2'	3'40"
+ 0,2 ml	5'	4'00"
Thrombinlösung	10'	4'30"
	20'	4'45"
	40'	keine Gerinnung
Kontrolle: Pferdeplasma mit Thrombin		1'39"

Aus den Ergebnissen geht hervor, daß die in Submandibularspeicheldrüsen befindlichen proteolytischen Faktoren außer ihrer Einwirkung auf Fibrin und Fibrinogen, auch einen Abbau des Thrombins zeigen.

III. Beeinflussung der Fibrinolyse durch Submandibulardrüsen-Homogenat

Zur Fortsetzung unserer Versuche wurde das Verhalten des Submandibulardrüsen-Homogenats gegenüber Fibrin geprüft. In gleicher Weise wurden Homogenate aus Parotis, Pankreas und anderen Organen untersucht und mit denen aus der Submandibulardrüse verglichen.

Wir verwendeten folgende Versuchsanordnung:

Citratplasma wurde in drei Parallelansätzen mit dem Homogenat inkubiert (Mengenverhältnis wie oben) und recalcifiziert. Aus einem ersten Ansatz (a) wurde das gebildete Fibrin entfernt, durch Waschen mit 0.9% NaCl-Lösung von Serumresten befreit, mit Aceton und Äthermischung behandelt, im Exsikkator getrocknet, in 4.0 ml m/15-Phosphatpuffer, p_H 7.8 (*) aufgenommen und bei 37°C bis zur völligen Auflösung aufbewahrt.

- (*) Durch eine Versuchsreihe wurde festgestellt, wie aus Tabelle 6 zu ersehen ist, daß das ideale p_H -Milieu für die proteolytische Wirkung der im Submandibulardrüsen-Homogenat befindlichen Faktoren auf das Fibrin bei 7.8 liegt. S. MÜLLERTZ (21) berichtet über den Einfluß des p_H -Milieus auf den fibrinolytischen Effekt.

Tab. 6 Wirkung des p_H -Milieus auf die proteolytische Fähigkeit
des Submandibulardrüsen-Homogenats auf das Fibrin

Erläuterung: In der ersten senkrechten Spalte befindet sich die p_H -Skala. In den zweiten und dritten senkrechten Hauptspalten befinden sich die Ansätze (wie S. 12 beschrieben) (a) und (c). In den Unterspalten wird zuerst die Zeit in Sekunden und der Zustand der Ansätze in der entsprechenden Zeit angegeben. Zusätzlich werden zwei Kontrollen angegeben, Kontrolle 1 nur aus Pferdecitratplasma; Kontrolle 2 Pferdecitratplasma und Submandibulardrüsenhomogenatzusatz.

Tabelle 6

p_H -Milieu	Ansätze		(Pferdeplasma und Submand. Homogenat)	
	a		c	
	Zeit	Zustand	Zeit	Zustand
4	90 h	unveränd.	90 h	unveränd.
5	90 h	unveränd.	90 h	unveränd.
6	90 h	beginnend	90 h	unveränd.
7	90 h	gelöst	90 h	beginnend
7,8	60 h	gelöst	90 h	gelöst
8	90 h	gelöst	90 h	beginnend
9	90 h	unveränd.	90 h	unveränd.
Kontrolle 1 Pferdeplasma	90 h	gelöst	90 h	unveränd.
Kontrolle 2 Pferde-Plasma + Submand. Hom.	60 h	gelöst	90 h	gelöst

Bei einem zweiten Ansatz (b) wurde nach Recalcifizierung das Fibrin nicht aus dem Serum entfernt, vielmehr bleibt der gesamte Ansatz bei 37°C bis zur Auflösung sich selbst überlassen (Toluolzusatz um Bakterienwachstum zu verhindern).

In einem dritten Ansatz (c) wird wie bei (a) das Fibrin aus dem Serum entfernt und gewaschen, jedoch nicht mit Aceton behandelt, sondern direkt in den Phosphatpuffer überführt. Drei entsprechende zur Kontrolle dienende Versuchsansätze blieben frei von Homogenat. Der Zeitpunkt der Fibrinauflösung wird visuell registriert (Lysiszeit) und zusätzlich das Ausmaß der Auflösung durch Messung des Tyrosin-Tryptophan-Äquivalents, unter Anwendung des Reagens nach FOLIN kolorimetrisch durch Extinktionsmessung mit dem Photometer Eppendorf bestimmt.

Nach den oben angegebenen Versuchsanordnungen kommt es zu einer Lösung der Fibrine ohne Zusatz von Submandibulardrüsenhomogenat im Verlauf von 30-180 Stunden; und zwar bei Versuch (a), gewöhnlich in 30-40 Stunden, Versuch (c) 72-90 Stunden und Versuch (b) in 90 und mehr Stunden. Wir haben also je nach der Lysisgeschwindigkeit der verschiedenen Ansätze folgende schema-

tische Formel: $a > c > b$. Bei den Ansätzen mit zugefügtem Submandibulardrüsenshomogenat findet man eine erhebliche Verkürzung der Lysiszeit, und zwar nicht in derselben Reihenfolge wie bei den Kontrollansätzen. Hier wird zuerst der Ansatz (b) gelöst und zwar in 4-16 Stunden, (c) in 12-24 Stunden und (a) in 46 und mehr Stunden. Die Formel ist hier: $b > c > a$.

Parotis, Pankreas sowie andere Organe führten, wie aus der Tabelle 7 ersichtlich ist, zu anderen Ergebnissen. Kein anderes Rattenorgan zeigt eine ähnliche fibrinolytische Wirkung, wie das Submandibulardrüsen-Homogenat. Zu beachten ist auch, daß außer der Homogenat aus der Submandibulardrüse alle anderen Organe dem Lysisprinzip der Kontrolle, d.h. $a > c > b$, folgen.

An der gesamten Versuchsreihe über die Vergleiche der Lysiszeit von Rattenorganen mit den Kontrollen ist festzustellen, daß außer der Submandibulardrüse nur Speichel im Sinne einer Beschleunigung gegenüber der Kontrolle wirkt.

Milz, Leber, Niere, Lunge, Herz beeinflussen nicht, während Parotis und Pankreasdrüsen, sowie Lymphknoten und vielleicht auch Gehirn im Sinne einer Verzögerung wirken. Es muß nochmals betont werden, daß alle diese Ergebnisse sich auf Rattenorgane beziehen.

Das Ergebnis der Versuche (a), (b) und (c) in den Kontrollserien beurteilen wir, wie schon an anderer Stelle (22) erläutert, in folgender Weise: die Fibrine bei (a) und (c) enthalten unseres Erachtens teils adsorptiv, teils mechanisch eingeschlossen und keineswegs durch einfaches Waschen entfernbar, eine Reihe von Effektoren der Fibrinolyse z.B. vollaktives Plasmin (Plasmatrypsin, Fibrinolysin), ferner Plasminogen, bzw. aktives Plasmin, welches durch eine Summe von Inhibitoren gehemmt ist (23). Diese Faktoren, aus dem Plasma stammend, gelangen zum Zeitpunkt der Gerinnung an das Fibrin. Wenn nun bei Versuch (a) durch eine Aceton-Behandlung die Lysiszeit im Vergleich zum Versuch (b) erheblich verkürzt wird (12 Stunden gegenüber 120 Stunden), so kann dies nur eine scheinbare Aktivierung sein. Tatsächlich wird es sich um eine irreversible Zerstörung von Inhibitoren durch Aceton-Äther handeln.

Das vorgebildete Ferment bleibt nach Aceton-Äther-Behandlung im enthemmten Zustand zurück. Aceton-Äther sind ja im biologischen Sinn nicht als Aktivatoren anzusprechen. Bei Versuch (c) bleiben die am Fibrin adsorbierten Plasmainhibitoren voll wirksam. Ein Vergleich der Lysiszeit bei (a) und (c) gibt Hinweise auf die Menge der Inhibitoren. Je länger bei einem Versuch die

Tabelle 7

Fibrinolysezeiten der Ansätze a, b, c bei verschiedenen Rattenorganen

Ansätze	Recalzfiz. Zeit	nach 16 Std.	nach 40 Std.	nach 64 Std.	nach 90 Std.	nach 120 Std.
2.0 ml Pferdeplasma + 2.0 NaCl	a 3'36"	stark gelöst unverändert	gelöst unverändert beginnend	unverändert fast gelöst	beginnend gelöst	fast gelöst
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Leberhomogenat	a b c 2'34"	stark gelöst unverändert stark gelöst	gelöst unverändert gelöst	unverändert unverändert gelöst	unverändert	unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Herz-Homogenat	a b c 2'32"	fast gelöst unverändert unverändert	gelöst unverändert gelöst	unverändert	unverändert	unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Niere-Homogenat	a b c	stark gelöst unverändert unverändert	gelöst unverändert beginnend	unverändert gelöst	unverändert	unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Submand.	a b c 18"	beginnend gelöst gelöst	stark gelöst	gelöst	gelöst	gelöst
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Lymphknoten	a b c 48"	unverändert unverändert unverändert	unverändert unverändert unverändert	unverändert unverändert unverändert	unverändert unverändert unverändert	unverändert unverändert unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Pankreas	a b c 1'10"	unverändert unverändert unverändert	unverändert unverändert unverändert	beginnend unverändert unverändert	stark gelöst unverändert unverändert	gelöst unverändert unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Parotis	a b c 38"	unverändert unverändert unverändert	unverändert unverändert unverändert	unverändert fast gelöst unverändert	unverändert gelöst unverändert	unverändert unverändert unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Gehirn	a b c 1'44"	fast gelöst unverändert unverändert	gelöst unverändert unverändert	unverändert unverändert	unverändert unverändert	unverändert unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Lunge	a b c 19"	fast gelöst unverändert unverändert	gelöst unverändert fast gelöst	unverändert gelöst	unverändert	unverändert
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Fett	a b c 52"	stark gelöst unverändert unverändert	gelöst unverändert beginnend	unverändert stark gelöst	unverändert gelöst	unverändert gelöst

Fibrinolysezeit bei (c) im Vergleich zu (a) ist, desto mehr Inhibitoren dürften vorhanden sein. Das Fibrin des Ansatzes (c) enthält so viele Effektoren als es zu binden vermag. In ein wäßriges System übertragen wirken auf das Fibrin die Summe der gebundenen Effektoren ein, nämlich das aktive Enzym, die Inhibitoren und die Kinasen, sofern solche vorhanden waren. Diese Faktoren stehen in einer Korrelation zueinander und bestimmen die Geschwindigkeit der Lysis. Bei Versuch (b) schließlich wirken auf das Fibrin sämtliche im System des Nativplasmas enthaltenen Aktivatoren und Inhibitoren ein. Es überrascht daher nicht, daß normalerweise bei den drei Versuchsansätzen bei (b) in den meisten Fällen die längste Lysiszeit zu beobachten ist.

Befindet sich nun im Plasmasystem ein plasmafremder Zusatz, im vorliegenden Falle die zugesetzten Organhomogenate, so werden bei der nachfolgenden Fibrinolyse die plasmafremden Faktoren additiv wirken.

Wenn nun, wie im vorhergehenden Abschnitt gezeigt wurde, die Homogenate der Submandibular-Speicheldrüse ein grundsätzlich anderes Verhalten zeigen als alle anderen Organe, nämlich eine so starke Verkürzung der Lysiszeit besonders bei Versuch (b), so kann dies nach den obigen Ausführungen bedingt sein, entweder durch einen das Maß anderer Homogenate übersteigenden Gehalt an aktivem, proteolytischem, speziell tryptischem Ferment oder an Gewebefibrinokinase. Im ersten Fall würde dieses proteolytische, vielleicht substratspezifische Ferment der Submandibularis unbeeinflusst von den Plasma-inhibitoren das Fibrin abbauen. Im zweiten Fall würde gemäß den von T. ASTRUP und I. STERN DORFF (24) verwendeten Begriffen und Prinzipien das Plasminogen des Plasmas durch Gewebsskinase der Submandibularis so vollständig aktiviert, d. h. in Plasmin verwandelt, daß es trotz Gegenwart von Plasmainhibitoren die Fibrinolyse stark beschleunigt. Die Tatsache, daß nach Zusatz von Submandibulardrüsen-Homogenat die Lysis des Ansatzes (a) verzögert wird, ist so zu erklären, daß Aceton-Äther nicht nur die Inhibitoren der Fibrinolyse, sondern auch noch die fibrinolytischen Effektoren der Submandibulardrüse zerstört.

Zum Nachweis führten wir folgenden Versuch durch: .

Ein Fibrinkoagulum wurde aus dem Ansatz entfernt, mit 0.9% NaCl-Lösung gewaschen, mit Aceton-Äther getrocknet und in das Serum zurückgebracht. Ein entsprechendes, anderes Fibrinkoagulum wurde mit 0.9% NaCl-Lösung gewaschen und in das Serum, das 0.2 ml Submandibulardrüse-Homogenat enthielt, zurückversetzt. Beide Fibrinkoagula lösen sich bei dieser Versuchsanordnung nach 16 Stunden.

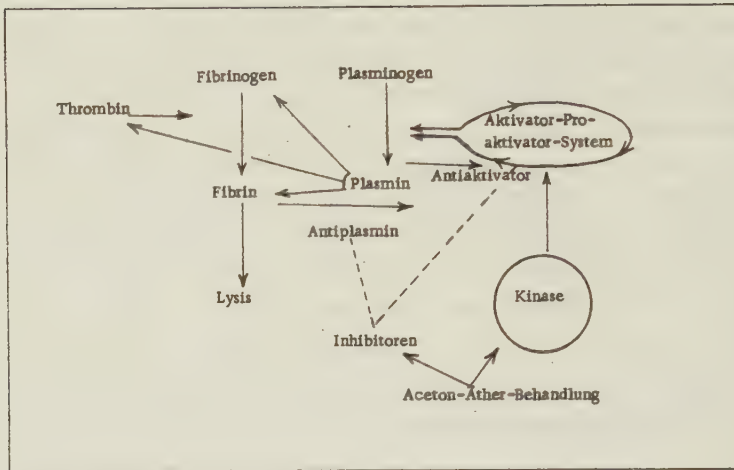


Abb. 2

Erläuterungen zu Abb. 2:

Der Mechanismus der Ansätze a, b und c aus der Kontrolle wurde oben erwähnt. Bei dem Ansatz (b) nach Zugabe von Submandibulardrüsen-Homogenat wirkt die Kinase additiv, so daß große Mengen von Plasminogen in Plasmin übergeführt werden und die Lysiszeit beschleunigen. Bei dem Ansatz (a) werden durch die Aceton-Äther Behandlung die Inhibitoren der Fibrinolyse abgebaut, aber auch gleichzeitig die im Submandibulardrüsen-Homogenat enthaltende Kinase. Infolgedessen läuft der Mechanismus bei dem Ansatz (a) mit Submandibulardrüsen-Homogenat genau wie bei dem entsprechenden Ansatz ohne Homogenat. Weil nun aber die Ansätze (b) und (c) durch die proteolytische Wirkung des Homogenates schnell aufgelöst werden, scheint die Lysis beim Ansatz (a) mit zugefügtem Homogenat verzögert.

Es ist aber auch folgende Deutung möglich: Submandibulardrüsen-Homogenate enthalten ein sehr hohes Maß proteolytischer Aktivität, so daß das gesamte Inhibitoren-System des Plasmas abgebaut wird und die Fibrinolyse rasch abläuft. Nach dieser Erklärung wäre das Verhalten des Submandibulardrüsen-Homogenates im Fibrinolyseversuch ($b > c > a$) auch verständlich, insofern als bei Aceton-Äther-Behandlung die Inhibitoren abgebaut werden, so daß die Angriffspunkte für die Effektoren des Homogenates verschwinden und das

Homogenat nicht in Funktion tritt. Die Lysiszeit bei (a) ist somit gegenüber den Ansätzen (b) und (c), wo die Inhibitoren nicht zerstört werden, verzögert.

Zwischen den beschriebenen Erklärungsmöglichkeiten kann man auswählen.

Einige einschlägige Versuche seien nachstehend beschrieben.

Die Versuchsanordnung war folgende:

2.0 ml Pferdeplasma wird recalcifiziert, das Fibrinkoagulum entnommen, gewaschen, in 0.9% NaCl-Lösung 35 Minuten auf 85°C erhitzt. Das erhitzte Fibrinkoagulum wird in 4.0 ml m/15-Phosphatpuffer, p_H 7.8 übertragen, 0.5 ml Homogenat zugefügt, bei 37°C aufbewahrt; der Fortgang und Endpunkt der Fibrinolyse registriert. Extinktionsmessung wie oben beschrieben.

Ergebnisse siehe in Tabelle 8.

Tabelle 8

Spaltung von erhitztem Fibrin

Homogenat aus	Lysiszeit des Fibrins in Std.	Extinktion
Submand.-Drüse	36	0.348
Pankreas	57	0.352
Parotis	96	nicht bestimmt

Aus der Tabelle 8 geht hervor, daß zwar das erhitzte Fibrin durch das Submandibulardrüsen-Homogenat schneller abgebaut wird als durch die Homogenate des Pankreas oder der Parotis. Die Intensität des Abbaues in zeitlicher Hinsicht ist aber nicht sehr imponierend. Ein isoliertes Fibrinkoagulum erhitzt, wird durch 0.5 ml Submandibulardrüsen-Homogenat erst nach 36 Stunden abgebaut, während normalerweise dasselbe Fibrinkoagulum in nicht erhitztem Zustand unter denselben Bedingungen in 5-8 Stunden abgebaut wurde. Daraus kann man auf die Anwesenheit einer sehr aktiven Kinase schließen, wenn man nicht eine Umwandlung des Fibrins in eine schwer lösliche Modifikation beim Erhitzen annehmen will.

Den Nachweis einer Fibrinokinase - wir möchten hier diesen Begriff nicht detailliert auffassen - führten wir nach einer abgewandelten, sog. Fibrinplattenmethode nach ASTRUP und MÜLLERTZ (23) durch.

Es wurde dabei plasminogenhaltiges Rinderfibrinogen mit Thrombin zur Gerinnung gebracht und die Homogenate auf die Oberfläche der entstandenen Fibrin-gallerte aufgetragen. Bei einem Parallelansatz wurde die Fibrin-gallerte 40 Minuten auf 85°C erhitzt, um nach den Erfahrungen der genannten Autoren die im Fibrin enthaltenen Komponenten Plasminogen, vielleicht auch Plasmin und Kinase zu inaktivieren. Anschließend wurden die Homogenate aufgetragen. Bei den erhitzten Proben wirkt auf das Fibrin eine im Homogenat enthaltene Proteinase ein. Bei den nicht erhitzten Proben wirkt zusätzlich eine im Homogenat eventuell vorhandene Fibrinokinase nach den Vorstellungen von ASTRUP und MÜLLERTZ auf das Plasminogen des Fibrins aktivierend ein. Diese Fibrinprobe wird somit schneller aufgelöst als jene, weil additiv die Proteinase des Homogenats und das Plasmin des Rinderfibrinogens einwirken können. Dies ist aber dankbar nur in Anwesenheit einer Kinase im Homogenat.

Wie die Tabelle 9 zeigt, lösen sich die nicht erhitzten Fibrine schneller, somit ist eine Fibrinokinase nachgewiesen. Wiederum ist das Homogenat der Submandibulärspeicheldrüsen den anderen überlegen.

Tab. 9 Nachweis von Fibrinokinase bei Anwendung von Rinderfibrinogen.

4 mg Fibrinogen der Firma Behring wurden in einem Reagenzglas (nicht in einer Petrischale wie bei ASTRUP) in 1,0 ml Phosphatpuffer m/15, p_H 7,8 mit einer eben ausreichenden Menge Thrombinlösung (Firma Behring) zur Gerinnung gebracht. Eine gleiche Probe wird erhitzt, wie erläutert. 0,2 ml Homogenat wurden auf die Gallerten aufgetragen. Der Zeitpunkt der Auflösung wurde visuell festgestellt und zusätzlich der Tyrosin-Tryptophanquotient mit dem Phenolreagens photometrisch ermittelt. Eine Extinktion von 0,350 in einem Kontrollversuch mit einer Fibrinmenge von 4 mg, entspricht einer völligen Auflösung des Fibrins.

Wie die Tab. 9 zeigt, ist die fibrinolytische Aktivität, gemessen an der Lysiszeit mit nicht erhitztem Fibrin, bei der Submandibulärspeicheldrüse am größten.

Tabelle 9

Homogenat aus	nicht erhitztes Fibrin		erhitztes Fibrin	
	Lysiszeit (Stdn.)	Extinktion	Lysiszeit (Stdn.)	Extinktion
Glandula Submand.	5	0.389	22	0.233
Gland. Parotis	12	0.356	24	0.372
Pankreas	10	0.352	22	0.338
Fibrin ohne Zusatz von Homogenaten		0.350		

Da nun aber bei dieser Versuchsanordnung ein im Homogenat vorhandenes aktives tryptisches Ferment eine Fibrinokinase vortäuschen kann, haben wir den Nachweis der letzteren auch noch folgendermaßen geführt:

Ein Fibrinkoagulum, aus Citratplasma nach Recalcifizierung gewonnen, wird in Phosphatpufferlösung, m/15, p_H 7.8, mit Homogenat der Submandibular-Speicheldrüse versetzt. Ein zweites entsprechendes Fibrinkoagulum wird durch Erhitzen auf 85°C fermentinaktiv gemacht und gleichfalls mit Homogenat versetzt. Das nicht erhitze Fibrin löst sich schneller als die Kontrolle. Dies kann nur bedingt sein durch eine Aktivierung des am Fibrin adsorbierten Plasminogens durch die Kinase des Homogenats. Diese Schlußfolgerung ist aber nur zulässig unter der Bedingung, daß durch das Erhitzen des Fibrins auf 85°C nicht eine unlösliche Modifikation entsteht.

Im vorhergehenden Abschnitt und bei Tabelle 9 wurde beschrieben, wie sich die Homogenate gegenüber Rinderfibrinogen verhalten. Ergänzend wäre zu berichten, daß ein anderes Versuchsergebnis erzielt wird, wenn man die Homogenate nicht in der Art der Fibrinplattenmethode auf die Fibringallerte aufträgt, sondern wenn man sie vor dem Zusatz des Thrombins mit der Fibrinogenlösung mischt. Es zeigt sich dann, daß bei Gegenwart von Pankreas- oder Parotishomogenat die Fibrinbildung normal einsetzt und abläuft, während in Gegenwart von Submandibular-Speicheldrüsenhomogenat die Gerinnung völlig verhindert wird. Es zeigt sich somit auch bei dieser Versuchsanordnung eine Aktivität besonders gegenüber den Gerinnungsfaktoren. Auf die in Frage kommende Fibrinogenolyse und eine scheinbare oder echte Antithrombinwirkung wurde oben bereits hingewiesen.

Außer der Klärung ob es sich um eine Kinase oder ein fibrinolytisches Ferment handelt, haben wir noch ergänzende Versuche mit dem Homogenat aus der Submandibular-Speicheldrüse abgeführt.

In einer Versuchsanordnung haben wir das Submandibulardrüsen-Homogenat zentrifugiert und dann nach den oben ausgeführten Methoden getestet. Es zeigt sich keine Abweichung an den bisher ausgeführten Ergebnissen. Bei der Testung des zweiten Zentrifugates und des Rückstandes des Homogenats zeigten sich Abweichungen insofern, als die Ansätze nicht mehr nach dem Submandibular-Prinzip d. h. $b > c > a$ sich verhalten, sondern genau wie die Kontrollansätze also $a > c > b$. Daraus kann man schließen, daß die fibrinolytisch-aktiven Effektoren im ersten Zentrifugat enthalten sind. Das Homogenat wurde auch in verschiedenen Konzentrationen mit 0.9% NaCl-Lösung verdünnt.

Tabelle 10

Verdünnungsversuche des Submandibulardrüsen-Homogenats
auf 1:1 und 1:4 mit 0.9% NaCl-Lösung

		Nach 16 Std.	Nach 40 Stdn.	Nach 64 Std.	Nach 110 Std.	Nach 134 Std.
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Sub.-Homog. (1:1 mit 0.9% NaCl- Lösung verdünnt)	a	stark angedaut	grob gelöst	gelöst		
	b	gelöst				
	c	stark gelöst	gelöst			
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml Sub.-Homog. (1:4 mit 0.9% Na-Cl- Lösung verdünnt)	a	be- ginnend	stark gelöst	gelöst		
	b	be- ginnend?	be- ginnend	$\frac{3}{5}$ gelöst	$\frac{4}{5}$ gelöst	$\frac{4}{5}$ gelöst
	c	unver- ändert	be- ginnend	gelöst		
2.0 ml Pferdeplasma als Kontrolle	a	gelöst				
	b	unver- ändert	unver- ändert	be- ginnend	fast gelöst	gelöst
	c	unver- ändert	be- ginnend	gelöst		
2.0 ml Pferdeplasma + 0.2 ml unverdünntes Sub.-Homogenat	a	stark gelöst	gelöst			
	b	gelöst				
	c	gelöst				

Aus der Tabelle 10 ist ersichtlich, daß bei der 1:1 Verdünnung des Submandibulardrüsen-Homogenats mit 0,9% NaCl-Lösung eine kleine Verzögerung der Lysiszeit eintritt.

Bei der 1:4 Verdünnung wird die Verzögerung noch größer und die Ansätze folgen nicht mehr dem Submandibularisprinzip, sondern verhalten sich wie die Ansätze der Kontrolle.

Die fibrinolytisch-aktiven Effektoren des Submandibulardrüsen-Homogenats werden nicht nur am Fibrinkoagulum adsorbiert, sondern befinden sich nach der Fibringerinnung noch in genügender Menge im Serum. Dies zeigt folgende Versuchsanordnung:

Zu 2,0 ml Pferdecitratplasma werden 0,2 ml Submandibulardrüsen-Homogenat zugefügt; dann wird recalcifiziert und das Fibrinkoagulum entfernt. Das übrig gebliebene Serum wird mit einem Fibrinkoagulum aus einem Kontrollansatz versetzt. Das Fibrinkoagulum löst sich viel schneller als das entsprechende bei der Kontrolle.

Eine andere Versuchsanordnung soll den Effekt der Submandibulardrüsen-Homogenate auf gewaschenes, das heißt plasminogen- oder auch plasminfreies Fibrin zeigen.

Ein Fibrinkoagulum wurde 48 Std. unter kaltes fließendes Wasser gehalten und dann in 4,0 ml Phosphatpufferlösung m/15, p_H 7,8 übertragen. Ein anderes Fibrinkoagulum aus der Kontrolle wurde ebenfalls 48 Std. gewaschen und in 4,0 ml Phosphatpufferlösung m/15, p_H 7,8 mit 0,2 ml Submandibulardrüsen-Homogenat übertragen. Schließlich wurde ein drittes Fibrinkoagulum aus der Kontrolle entfernt, nicht gewaschen und ebenfalls in 4,0 ml Phosphatpufferlösung mit 0,2 ml Submandibulardrüsen-Homogenat versetzt. Die Ergebnisse sind aus der Tab. 11 zu entnehmen.

Tabelle 11
Verhalten von gewaschenem Fibrin gegen Submandibular-Drüsen-Homogenat

		Nach 16 Std.	Nach 24 Std.	Nach 96 Std.	Nach 120 Std.	Nach 144 Std.	Nach 168 Std.
Fibrinkoag. aus der Kontrolle, 48 Std. gewaschen mit 4.0 ml Phosphatpuffer versetzt	a	stark angedaut	stark angedaut	stark angedaut	stark angedaut	stark angedaut	stark angedaut
	c	unver- ändert	unver- ändert	unver- ändert	unver- ändert	stark angedaut	stark angedaut
Fibrinkoag. aus der Kontrolle, 48 Std. gewaschen in 4.0 ml Pufferlösung + 0.2 ml Submandibul.-Homogen.	a	stark angedaut	stark angedaut	stark angedaut	stark angedaut	$\frac{2}{3}$ gelöst	fast gelöst
	c	unver- ändert	be- ginnend	fast gelöst	gelöst		
Fibrinkoag. aus der Kontrolle, nicht ge- waschen, in 4.0 ml Pufferlösung mit 0.2 ml Sub.-Hom. vers.	a	unver- ändert	unver- ändert	unver- ändert	be- ginnend	be- ginnend	$\frac{1}{4}$ gelöst
	c	stark gelöst	stark gelöst	stark angedaut	stark angedaut	$\frac{1}{3}$ gelöst	$\frac{2}{3}$ gelöst

Aus der Tab. 11 ist leicht ersichtlich, daß durch die 48stündliche Behandlung mit 4.0 ml ein Teil der Plasminogenaktivatoren oder sogar Plasminogen selbst ausgewaschen wurden. Somit fällt der Angriffspunkt der Fibrinolyse-Effektoren des Submandibulardrüsen-Homogenats (Fibrinokinase) aus, und dadurch wird die Lysiszeit verzögert, oder es tritt überhaupt keine Lysis ein. Die Ansätze bleiben nach längerer Beobachtungszeit auf der Stufe "stark gedaut" stehen.

Es ist nun zu berichten über Versuche zur Freilegung der Wirkstoffkomponenten der Submandibulardrüsen. Wir haben für alle bisher beschriebenen Versuche Homogenate und zentrifugierte Homogenate oder Extrakte daraus verwendet. Wir versuchten festzustellen, wie weit aus intakten Drüsen die uns interessierenden fibrinolytischen Faktoren auch in vitro "sezerniert" werden.

Die Versuchsanordnung war folgende: Von den 4 Drüsen von zwei Ratten wurden je 2 während 48 Std. im Kühlschrank (+3 Grad) in 0.9proz. Kochsalzlösung gelegt. Die beiden anderen Drüsen wurden sofort nach der Entnahme aus dem Tier in der oben beschriebenen Weise homogenisiert und ihre Wirksamkeit geprüft. Nach 48stündigem Aufbewahren im Kühlschrank wurden die Drüsen aus der NaCl-Lösung entfernt und die NaCl-Lösung nach unserem Versuchsschema auf Fibrinolysewirkung geprüft. Es stellte sich heraus, wie aus Tab. 12 hervorgeht, daß offensichtlich durch Diffusion oder Penetration die aktiven Fermente oder Fermenteffektoren auch ohne erhebliche Zellstrukturzerstörung freigelegt werden. Vielleicht handelt es sich auch nur um eine einfache Herauslösung von prä mortal gebildetem Sekret, also eine "post mortale Sekretion".

Tabelle 12

Fibrinolyse durch "post mortale Sekrete" aus Submandibular-Speichel-Drüsen
Ansätze wie oben. Fibrine aus 2.0 ml Pferdeplasma. Den Ansätzen a, b, c wurden je 0.2 ml NaCl-Lösung mit denen die Drüsen inkubiert waren zugesetzt.

Ansätze:	Zustand der Fibrinkoagula nach:					
		75"	4 h	24 h	46 h	94 h
Kontrollversuch keine Zusätze	a	unverändert	unverändert	beginnend	fast gelöst	gelöst
	b	unverändert	unverändert	unverändert	beginnend	1/3 gelöst
	c	unverändert	unverändert	unverändert	beginnend	2/3 gelöst
Zusatz von je 0.2 ml "Sekret"	a	fast gelöst	gelöst			
	b	gelöst				
	c	gelöst				

Wir haben unsere Untersuchungen ausgedehnt auf das Problem der Spaltbarkeit anderer Substrate außer Fibrin, nämlich Casein, Gelatine, Di- und Polypeptide, und zwar bei unterschiedlichem p_H unter Anwendung bekannter Fermentaktivatoren, etwa Blausäure, Enterokinase, Manganosalze. Wir untersuchten also, dem bewährten Einteilungsprinzip der WILLSTÄTTERSchen Schule folgend, tryptische und katheptische Fermente sowie Di- und Polypeptidasen.

IV. Vergleich der tryptischen Wirksamkeit von Homogenaten
aus Glandula submandibularis, Parotis und Pankreas,
gemessen an der Spaltung von Casein

Ansätze: Volumen 10,0 ml enthaltend 2,0 ml Pufferlösung m/15, p_H 7,8
2,0 ml Caseinstandardlösung, 0,5 ml Homogenat; Versuchszeit 24 Stunden,
37°C Caseinlösung: 6 g Casein HAMMARSTEN in 100 ml
 NH_3-NH_4Cl -Puffer, eingestellt auf p_H 7,8.

Eine Analysenprobe von 2,0 ml wurde mit 20% Trichloressigsäure enteiweißt, das Filtrat mit Phenolreagens versetzt, die Extinktionsmessung mit dem Photometer Eppendorf durchgeführt.

Bei jeweils einem Ansatz wurden 0,1 ml Enterokinase-Lösung, enthaltend 1,0 mg eines aus Schweinedünndarm nach WILLSTÄTTER und Mitarb. (25) hergestellten Präparates, zugefügt.

Ein Kontrollzusatz enthält nur Homogenat und Pufferlösung.

Um einen Vergleich zu haben, wurde nach dem gleichen Schema ein käufliches Trypsinpräparat der Firma Merck getestet. 1,5 mg dieses Präparates ergaben eine Caseinspaltung in 24 Std., entsprechend einer Extinktion von 1,726.

Die Ergebnisse finden sich nachfolgend in Tabelle 13, Seite 26.

Der Tab. 13 ist folgendes zu entnehmen: Die höchste Caseinspaltung ohne Enterokinase-Aktivierung zeigt das Submandibulardrüsen-Homogenat. Die höchste Caseinspaltung bei Enterokinase-Zusatz zeigt erwartungsgemäß das Pankreashomogenat. In der Submandibulardrüse und in der Parotis liegt das tryptische Ferment vollaktiv vor und ist durch Enterokinase nicht signifikant beeinflusbar. Das überraschende Ergebnis ist die im Vergleich zur Pankreasdrüse sehr hohe tryptische Aktivität der Submandibular-Speicheldrüse.

Eine p_H -Aktivitätskurve, auf deren Wiedergabe wir hier verzichten, zeigt bei allen drei Organen ein Wirkungsoptimum etwa bei p_H 7,8. Kleinere Abweichungen von diesem Wert sind wohl milieubedingt, handelt es sich doch bei den verschiedenen Präparaten um Homogenate, die ohne besondere Reinigung oder Anreicherungsverfahren hergestellt wurden.

Tabelle 13
Caseinspaltung durch Speicheldrüsen-Homogenate

Organ	Ansätze		Diff. der Extinktionen zwischen 0 und 24 Std.	Casein- spaltung	Diff. zwischen Ansatz 2 u. 3 = Ausmaß der Caseinspaltung nach Aktivierung d. Enterokinase
Pankreas	1	Extr. + Pufferlsg.	0.081	-	
	2	Extr. + Pufferlsg. + Casein	0.597	0.516	1.291
	3	Extr. + Pufferlsg. + Casein + Enterokinase	1.888	1.807	
Parotis	1	Extr. + Pufferlsg.	0.058	-	
	2	Extr. + Pufferlsg. + Casein	0.530	0.472	0.152
	3	Extr. + Pufferlsg. + Casein + Enterokinase	0.682	0.624	
Submand.	1	Extr. + Pufferlsg.	0.066	-	
	2	Extr. + Pufferlsg. + Casein	1.382	1.316	0.211
	3	Extr. + Pufferlsg. + Casein + Enterokinase	1.593	1.527	

V. Die Spaltung von Gelatine

Auch die Spaltung von Gelatine wurde untersucht. Es handelt sich dabei um den Nachweis und die Charakterisierung katheptischer Enzyme. Die Versuche wurden mit und ohne Blausäureeinwirkung im p_H -Bereich 4,0-8,0 durchgeführt. Die Spaltung der Substrate wurde durch Titration der Analysenproben mit n/20-alkoholischer Kalilauge nach WILLSTÄTTER/WALDSCHMIDT-LEITZ gemessen.

Tabelle 14

Vergleich der Gelatinespaltungen

Ansätze	p_H	ml n/20-KOH Differenz nach 24 Stdn.		
		Parotis	Pankreas	Submand.
Homogenat + Gelatine	4.0	0,15	0.48	0.32
Homogenat + Gelatine + HCN	4.0	0.35	0.62	0.21
Homogenat + Gelatine	5.0	0.08	0.42	0.35
Homogenat + Gelatine + HCN	5.0	0.54	0.50	0.53
Homogenat + Gelatine	7.0	0.04	0.26	0.44
Homogenat + Gelatine + HCN	7.0	0.05	0.09	0.70
Homogenat + Gelatine	8.0	0.00	0.38	0.31
Homogenat + Gelatine + HCN	8.0	0.00	0.13	0.50

Der Vergleich der proteolytischen Aktivität, gemessen an der Gelatinespaltung bei p_H 4-5, zeigt die Reihenfolge: Pankreas > Parotis > Submandibularis; bei p_H 8: Submandibularis > Pankreas > Parotis. Die größte Gelatinespaltung durch die Submandibularis bei p_H 8 dürfte wohl auf die höhere Aktivität eines tryptischen Fermentes zurückzuführen sein.

Vergleich der Spaltung von Peptiden

Wir haben schließlich noch einige Versuche zur Feststellung der Spaltung von Dipeptiden und Polypeptiden angestellt. Wir bedienten uns des Glycyl-Glycins (G-G) und des DL-Leucyl-Glycyl-Glycins (DL-L-G-G) um die Aktivität der Dipeptidase und der Aminopolypeptidase zu ermitteln.

Tabelle 15

Spaltung von G-G und DL-L-G-G durch Speicheldrüsen-Homogenate

Ansätze	ml n/20-KOH		
	Parotis	Pankreas	Submand.
Homog. + G-G	0.40	0.55	0.83
Homog. + G-G+Mn ²⁺	0.50	0.60	0.42
Homog. + DL-L-G-G	1.06	1.05	1.06
Homog. + DL-L-G-G+Mn ²⁺	1.09	1.03	1.04

Ansätze: Volumen 5.0 ml; 3.0 ml G-G, bzw. 2.0 ml DL-L-G-G; 0.5 ml Phosphatpuffer m/15; p_H 7.8 beim Dipeptid G-G; p_H 7.0 beim Tripeptid; 0.5 ml Homogenat; Versuchszeit 4 Stdn.; Die Spaltung wurde titrimetrisch gemessen. Titrationsprobe 1.0 ml. Die Zahlen in der Tab. 15 bedeuten Zunahme von verbrauchter n/20 alkoholischer Kalilauge. In einer entsprechenden Anzahl von Versuchsansätzen wurde Manganochlorid zugefügt, so daß die Konzentration m/1000 war.

Peptidlösungen: 1.2 g G-G, bzw. 3.06 g DL-L-G-G in 50 ml Phosphatpuffer, eingestellt auf p_H 7.8 bzw. 7.0.

Die beiden Peptide wurden von den drei Organhomogenaten gleichmäßig gut und ohne bemerkenswerte Unterschiede gespalten. Die Gegenwart von Manganoionen erwies sich bei frisch bereiteten Homogenaten als wirksam. Bei den gealterten Homogenaten zeigten sich Unterschiede, jedoch keine für die Submandibulardrüse typischen.

Mit der Untersuchung von Peptid- und Caseinspaltung durch Speicheldrüsen und sezernierenden Speichel haben sich erstmals schon 1930 WILLSTÄTTER, BAMANN und ROHDEWALD (17) beschäftigt. Diese Autoren untersuchten die Parotis, Sublingualdrüse und Submaxillardrüse vom Pferd, Schwein, Hund und Mensch. Ihre Untersuchungen dienten vorwiegend dem Nachweis und der Charakterisierung der Fermente und lassen keine Aussage über einen quantitativen Vergleich zu und geben auch keine Hinweise auf eine Besonderheit der einen oder anderen Drüse, die ja für uns der Ausgangspunkt unserer Experimente war.

Einige Jahrzehnte nach den Arbeiten WILLSTÄTTERS und Mitarbeitern beschäftigten sich SREEBNY und Mitarbeiter mit den Proteasen der Speicheldrüsen von Ratten. Wir referieren hier ausführlich die zusammenfassende Arbeit der genannten Autoren aus den Annalen der New York Academy of Science (26). Diese Arbeit erschien im März 1960 und kam erst nach Drucklegung eigener Arbeiten (H. Bayerle und A. Chryssikopoulos (27) Mai 1960) zu unserer Kenntnis. SREEBNY und Mitarbeiter fanden folgendes: Die Submandibulardrüsenextrakte von Albinoratten enthalten ein beträchtlich aktives Enzymsystem, welches "Azocoll", Casein, Gelatine und Benzoyl-Argininamid angreift, nicht aber Chondroitinsulfat, Magenmucin, oder natives Collagen. Extrakte aus anderen Rattenorganen, nämlich Milz, Leber, Testes, Nieren, Muskel, Parotis, Sublingualis greifen Azocoll nicht an, dagegen aber aktivierter Pankreasextrakt und Extrakte der kleinen Intestinaldrüsen. Das Submaxillarisenzym hat nach SREEBNY sein Wirkungsoptimum ungefähr bei p_H 9,6, es ist leicht empfindlich gegen Säure und stärker empfindlich gegen Alkali. Das Temperaturoptimum liegt bei 50-55 Grad. Cystein und Ascorbinsäure aktivieren und Jod hemmt die Wirkung. Jodessigsäure, Magnesiumsulfat und Trypsininhibitoren haben keinen Effekt. Eine Dialyse der Extrakte bewirkt Abnahme der Aktivität, die auf den Verlust einiger anorganischer Komponenten zurückzuführen ist. Die proteolytische Aktivität gegenüber Azocoll ist bei Extrakten aus den Drüsen männlicher und weiblicher Tiere, in Abhängigkeit zum Alter der Tiere unterschiedlich. Sie ist höher beim männlichen Tier und höher mit fortschreitendem Alter. Der proportionale Altersunterschied ist im Alter von 90 Tagen maximal. Auf Grund dieser Unterschiede vermuteten SREEBNY und Mitarbeiter, daß die Aktivität der Speicheldrüsen unter dem Einfluß von Sexualhormonen steht.

Sie untersuchten die proteolytische Aktivität, gemessen an Azocoll, der Submaxillaris- und Pankreasdrüse bei kastrierten Ratten. Die Proteaseaktivität war nicht beeinflusst im Alter von 60 Tagen. Bei 90 Tagen jedoch war sie nur noch ein Drittel des Kontrollwertes und nach 150 Tagen nur noch die Hälfte. Die proteolytische Aktivität des Pankreas war durch Kastration nicht beeinflusst. Früher fanden Junqueira und Mitarbeiter (28) bei Mäusen nach Kastration den Proteasegehalt der Submaxillaris reduziert. Nach einigen, bisher nicht veröffentlichten Versuchen, hat die Kastration bei weiblichen Ratten eher einen fördernden Einfluß auf die proteolytische Aktivität der Drüsen, gemessen allerdings an fibrinolytischen Faktoren. Sreebny hat auch an hypophysectromierten Tieren eine Hormonsubstitution versucht. Nach Verabreichung

von Testosteron, Thyroxin, und beiden zusammen, stieg die Proteaseaktivität wieder auf Normalwerte an. Dagegen fanden Clark und Mitarbeiter (29), daß bei infantilen, weiblichen, hypophysektomierten Ratten die proteolytische Aktivität und die morphologischen Veränderungen der Drüsen durch Thyroxin oder Testosteron nicht wieder hergestellt werden können. Nach Sreebny und Shafer und Muhler (l.c) führt die Hypophysektomie im Vergleich zur Kastration zu einer sehr drastischen Reduktion der proteolytischen Aktivität der Submaxillaris, nämlich bis zu 90%. Sie führt überdies auch zur Reduktion des Körpergewichtes und des Trockengewichtes der Drüsen. Solche Untersuchungsergebnisse haben eine Parallele in den Beobachtungen von Koster (30) und Bryans und Mitarb. (31) betreffend einer Abnahme der proteolytischen Aktivität des Pankreas nach Hypophysektomie.

Die von uns gefundenen, vorausgehend beschriebenen Effekte (einer erhöhten Thrombokinas-Aktivität, einer beschleunigten Fibrinausscheidung und erhöhten Fibrin-Fragilität, einer Antithrombinwirkung, Fibrinogenolyse und gesteigerten Fibrinolyse u.a.), die auf eine Sonderstellung der Submandibulardrüse innerhalb anderer sezernierender Drüsen und Organe hinweisen, könnten eine gemeinsame Ursache haben, nämlich eine hohe, vielleicht sogar spezifische Proteinase-Aktivität. Sicher aber bestehen Zusammenhänge. So war z.B. immer eine Parallelität zwischen Thrombokinas-Aktivität und fibrinolytischer Aktivität festzustellen. Auf die Bedeutung des Plasmins (Fibrinolysin) für einige Phasen der Blutgerinnung wird immer wieder hingewiesen. Die ermittelte hohe Fibrinokinas-Aktivität der Speicheldrüsen-Homogenate würde über dem Umweg der Plasminaktivierung eine hohe Thrombokinas-Wirksamkeit provozieren.

Diese Beobachtungen sind vorwiegend enzymologischer Art. Einige biologische Fragen drängen sich auf etwa, ob die beschriebenen Effekte ein Ausdruck für den Funktionszustand der Drüse sind. Aus den einleitenden Ausführungen geht hervor, daß sich unsere Untersuchungen auf das Versuchstier weiße Ratte beziehen. Wir haben bisher nicht systematisch geprüft, wie sich die entsprechenden Drüsen anderer Tierspezies verhalten. Nach den bisherigen Beobachtungen scheinen sich die Speicheldrüsen der Maus ähnlich zu verhalten. Wir konnten aber feststellen, daß die auf die Fibrinolyse sich beziehenden Befunde sich fast ausschließlich bei Drüsen älterer männlicher Tiere, weniger ausgeprägt bei alten weiblichen, nicht aber, oder nur angedeutet bei jungen Tieren zeigten. Dieses Ergebnis steht in Parallele zu den oben referierten Ergebnissen von Sreebny.

Es ist interessant, daß gezeigt werden konnte (10), daß auch der Speichel alter Tiere trypsinreicher ist als der von jungen Tieren. KERZINNER-JANERNIG und KNOBLOCH (32) zeigten, daß auch der Fibringehalt mit dem Alter zunimmt, auch die Fibrinolyse nimmt entsprechend zu. Diese Beobachtungen konnten wir nicht bestätigen.

Es ist aber interessant, daß wir feststellen konnten, daß die Submandibular-Speicheldrüsen alter, männlicher, kachektischer Tiere mit Walkercarcinom sich als nicht sehr aktiv erwiesen. Die Drüsengewichte solcher Tiere sind übrigens ziemlich reduziert. Es liegt wohl eine allgemeine Unterfunktion vor. Die Drüsen verstorbener Tiere, auch ohne pathologischen Befund, waren häufig inaktiv. Dagegen hielt sich die Wirksamkeit in steril entnommenen und steril autolysierten Drüsen von getöteten normalen Tieren noch nach mehreren Tagen gut.

Literatur

Die angegebene Literatur mußte teilweise aus Referaten entnommen werden, da nicht alle Originalarbeiten zugänglich waren.

- 1 EVANS G. Principles of Human Physiology-London (1945)
- 2 FAHRENHOLZ G. Handbuch der vergleich.Anat.der Wirbeltiere. Bd.III - Berlin und Wien (1937)
- 3 MERKEL F. Die Speicheldrüsen Leipzig (1883)
- 4 BAYLISS W.M. und BRANDFORD J.R. J. Physiology-London 6, 13, (1885)
- 5 HEIDENHEIM R. Beiträge zur Lehre von der Speichelabsonderung - Stud.Phys.Inst.-Breslau, 4, I (1868)
- 6 LANGENSKIÖLD A. Acta phys.scandinavica 2, Suppl 6 (1941)
- 7 DEWAR M.R. Neue mediz.Welt 842 (1951)
- 8 ROGERS H.J. Nature 161, 815 (1948)
- 9 WEINMANN J. Zeit.für Stomatol. 34, 1, 7 (1936)
- 10 RESNIK J. Z.Nutrit 66, 411, (1958)
WILLET N.O. und SHAW J.H.
- 11 GRANADOS H. Acta pathol.scandin. 21, 501-505 (1950)
CLAVIND J.
NOER B. und DAM H.
- 12 ITO Y. Endocrin.Japanica 2, 247-261 (1955)
- 13 NOBUZIRO TAKIZAWA Acta path.Japanica 4, 229-266 (1954)
- 14 OGATA T. Endocrin.Japanica 2, 247-261 (1955)
- 15 ITO Y. Endocrin.Japanica 5, 256 (1958)
HIROSE S. und TAKENCHI K.
- 16 VOSS O. Hoppe-Seyler's Z.für phys.Chemie 197
42 (1931)
- 17 WILLSTÄTTER R. Hoppe-Seyler's Zeit.für Physiol.Chemie 186,
BAMANN E. und 85 (1930)
ROHDEWALD M.
- 18 ALBRECHTSEN O.K. Acta physiol.scandinavica 35,
THAYSEN J.H. 138-145 (1955)
- 19 BIERSTEDT P. Zeit f.exper.Medizin 129,
164-170 (1957)

- 20 BIERSTEDT P. Hoppe-Seyler's 308, 20-23 (1957)
- 21 MÜLLERTZ S. Acta physiol.scandin. 38, 13-66, (1956)
- 22 BAYERLE H. und KAMMENHUBER K. Blut, 4, 78 (1958)
- 23 ASTRUP T. und MUELLERTZ S. Arch.Biochem.Biophysics 40, 346 (1952)
- 24 ASTRUP T. und STERNENDORFF I. Proc.Soc.Exper.Biol.a.Med. 84, 605-608 (1953)
- 25 WILLSTÄTTER R. Untersuch.über Enzyme Berlin (1928) Bd. 2, S. 1273
- 26 SREEBNY L.M. Annals of the New York Academy of Sciences 85, 182-188 (1960)
- 27 BAYERLE H. und CHRYSSIKOPOULOS A. Zeitschrift für Naturforschung 15b, 721 (1960)
- 28 JUNQUEIRA L.C.U. J.Cellular Comp.Physiol. 34, 129 (1949)
FAJER A.B.
RABINORITSCH M.
FRANKENTHAL L.
- 29 CLARK P.G. J.Dental Research, 36, 403 (1957)
SHAFFER W.G.
MÜHLER J.C.
- 30 KOSTER S. Pflug.Arch.Physiol. 224, 212 (1930)
- 31 BRYANS F.E. Diabetes 1, 358-362 (1952)
KINASH B.
ASHROORTH und
HAIST R.E.
- 32 KERZINNER-JANERNIG E. Zeit.für Altersforschung 7, 25-29 (1953)
KNOBLOCH

Zusammenfassung

Es wurden Untersuchungen über das proteolytische System der Submandibular-Speicheldrüse der Ratte (nachfolgend abgekürzt mit Gl-S, = Glandula Submandibularis) durchgeführt und mit entsprechenden Ergebnissen bei Parotis und Pankreas verglichen.

Dabei ergab sich:

1. Homogenate und Extrakte aus Gl-S erweisen sich, verglichen mit Parotis und Pankreas bezüglich ihrer Thrombokinas-Aktivität bei sämtlichen untersuchten Plasmen überlegen. Ein besonderes Verhalten zeigte sich bei Rinderplasma, welches nach kurzer Einwirkung des Gl-S-Homogenats und Recalcifizierung nicht mehr gerinnt. Verglichen mit anderen Rattenorganen gehören die Homogenate aus Gl-S zu den aktivsten Präparaten.
2. Schon nach kürzester Einwirkungsdauer von Homogenaten und Extrakten aus Gl-S auf Plasmen ist nach anschließender Recalcifizierung die Bildung eines zusammenhängenden Fibrinkoagulums behindert oder die Fragilität eines gebildeten Fibrinnetzes erhöht.
3. Homogenate aus Gl-S lösen, verglichen mit Homogenaten aus anderen Organen, in kürzester Zeit Fibrinogen auf und zeigen ferner eine bedeutende Antithrombinwirkung.
4. Homogenate aus Gl-S sind auch in hohem Maße fibrinolytisch aktiv. Diese Wirkung beruht zum Teil auf der Aktivität eines tryptischen Ferments, zum Teil, speziell bei Anwendung eines Plasmasystems, auf einer sehr hohen Kinaseaktivität, die alle anderen Organe übertrifft.
5. Nur das erste Zentrifugat des Gl-S-Homogenats erwies sich als fibrinolytisch aktiv. Nicht aber das zweite Zentrifugat oder der Rückstand.
6. Durch Verdünnung des Gl-S-Homogenats mit 0.9% NaCl-Lösung auf verschiedenen Konzentrationen wurde festgestellt, daß bei abnehmenden Konzentrationen auch die fibrinolytische Wirkung abnimmt.
7. Durch langdauerndes Waschen von Fibrinkoagula wurde gezeigt, daß Plasminogen-Aktivator, wie auch Plasminogen selbst entfernbar sind.

8. "Postmortalessekrete" der Gl-S erwiesen sich fibrinolytisch sehr aktiv.
9. Gemessen an der Gelatinespaltung ist Pankreashomogenat aktiver als die anderen, jedoch nur bei p_H 4.0-5.0 und bei Gegenwart von KCN (Kathepsinwirkung). Bei p_H 8.0 ist auch die Gelatinespaltung am aktivsten bei Anwendung von Gl-S-Homogenaten.
10. Auch gegenüber Casein als Substrat zeigen Homogenate aus Gl-S eine stärkere tryptische Wirksamkeit als die anderen untersuchten Organe, jedoch in Abwesenheit vom Trypsinaktivator Enterokinase. In Gegenwart dieses Aktivators ist das Homogenat aus Pankreas am wirksamsten. In den Speicheldrüsen liegt das tryptische Ferment vollaktiv vor; das p_H -Optimum liegt bei p_H 7.8.
11. Das Dipeptid Glycyl-Glycin wird in Abwesenheit von Manganionen am besten gespalten durch Gl-S. Das Tripeptid DL-Leucyl-Glycyl-Glycin wird von allen untersuchten Homogenaten gleichmäßig stark und unbeeinflusst durch Manganionen gespalten.
12. Es wird darauf hingewiesen, daß die beschriebenen Effekte, welche das Gerinnungssystem betreffen, vorwiegend bei Drüsen alter männlicher Tiere, nicht aber bei jungen Tieren, sich zeigen. Auch tumorkranke, kachektische Tiere lassen diese Effekte vermissen.

Herrn Professor Dr. W. Büngeler
Direktor des Pathologischen Instituts der
Universität München

möchte ich meinen aufrichtigen Dank für die Übernahme des Referates aussprechen.

Herrn Dr. med. Dr. phil. H. Bayerle
Leiter der Chemischen Abteilung des
Pathologischen Instituts der Universität München

danke ich für die Überlassung des Themas und für seine Anregungen und Ratschläge bei der Durchführung der Arbeit.

Lebenslauf

Geboren am 28.10.1934 in Athen-Hellas als einziges Kind des Kaufmanns Charalambos Chryssikopoulos, besuchte ich die Volksschule in Athen und trat im September 1946 in das "Barbakion"-Gymnasium in Athen über. Juli 1952 bestand ich die Reifeprüfung. September 1954 kam ich nach Deutschland, wo ich zuerst im Goethe-Institut Bad Reichenhall einen Schnellkurs für deutsche Sprache mitmachte.

November 1954 begann ich mein Medizinstudium an der Universität München, wo ich im Oktober 1957 die ärztliche Vorprüfung ablegte. Im Juli 1961 legte ich an derselben Universität das Staatsexamen ab. Seit September 1961 bin ich als Medizinalassistent im Kreiskrankenhaus Markt Indersdorf bei Dachau beschäftigt. Von Juli 1959 bis jetzt, Dezember 1961 befasste ich mich im Rahmen meines Medizinstudiums mit der Durchführung der vorliegenden Dissertation, die ich vor Beginn der obligaten Militärdienstzeit in meiner Heimat der Medizinischen Fakultät der Universität München vorlege.

